

Rev Inv Vet Perú 2009; 20 (1): 90-101

EVALUACIÓN DE DOS VACUNAS COMERCIALES CONTENIENDO EL COMPLEJO ANTÍGENO ANTICUERPO CONTRA LA INFECCIÓN BURSAL EN POLLOS DE CARNE

EVALUATION OF TWO COMMERCIAL VACCINES CONTAINING THE ANTIGEN-ANTIBODY COMPLEX AGAINST THE INFECTIOUS BURSAL DISEASE IN BROILERS

Karina Vidal A.¹, Eliana Icochea D'A.^{1,2}, Rosa Perales C.³ y Alberto Manchego S.⁴

RESUMEN

Se evaluó la protección conferida en pollos de carne por dos vacunas a base de un complejo antígeno anticuerpo (Ag/Ac) conteniendo la cepa 2512 del virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIBV) ligada a anticuerpos específicos al virus. Los grupos A y B fueron vacunados al 1^{er} día de edad, vía subcutánea, con vacunas comerciales complejo antígeno anticuerpo; el grupo C fue sometido a un programa de vacunación tradicional con vacunas intermedias a los 10 y 18 días de edad; y el grupo D (control) no fue vacunado. A los 35 días de edad, 45 aves de cada grupo fueron desafiadas con la cepa estándar F52/70 de la EIB. A los 4, 7 y 10 días post desafío se sacrificó 15 aves de cada grupo para la evaluación de lesiones anátomo-patológicas. La protección fue medida a través de signos clínicos, índice bursal (IB), lesiones macroscópicas y microscópicas, serología y parámetros productivos post desafío. Las aves de todos los grupos presentaron depresión y diarrea, siendo más severo en el grupo D y menores en el grupo A. Se observó edema bursal en todos los grupos hasta los 10 días post desafío. El IB en los cuatro grupos evidenció atrofia bursal, y las lesiones macroscópicas y microscópicas fueron más severas en el grupo D. La seroconversión se observó solo en los grupos con vacunas complejos antígeno anticuerpo al fin del estudio. Los grupos vacunados mostraron parámetros productivos ligeramente superiores al grupo control. Los resultados indican que los grupos vacunados fueron mejor protegidos que el grupo control, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Palabras clave: Enfermedad infecciosa de la Bursa (EIB), complejo antígeno anticuerpo, vacunación, protección, pollo de carne

ABSTRACT

The present study evaluated the conferred protection by two immune complex (Icx) vaccines containing a 2512 strain of Infectious Bursa Disease virus (IBDV) linked to a virus specific antibodies. Groups A and B were subcutaneously vaccinated at one day

¹ Laboratorio de Patología Aviar, ³ Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria,

⁴ Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

² E-mail: eliana.icochea@gmail.com

old using two commercial Icx vaccines; Group C was submitted to the traditional vaccination programme using intermediate vaccines at 10 and 18 days of age; and Group D (control) remained without vaccination. At 35 days of age, 45 birds of each group were challenged with a standard IBDV strain F52/70. At days 4, 7, and 10 post challenge, 15 birds of each group were slaughtered for the evaluation of pathological lesions. Protection was measured through clinical signs, bursal index (BI), gross and microscopic lesions, serology, and productive parameters after challenge. Birds of all groups presented depression and diarrhoea, especially in group D. Bursal oedema was observed in all groups until day 10 day post challenge. The BI in the four groups revealed bursal atrophy but the histopathology lesions were more severe in the control group. Seroconversion was observed at the end of the study in groups with Icx vaccines (A y B). Productive parameters of the vaccinated groups were slightly better in vaccinated groups. Although the results indicated that the vaccinated groups were better protected compared with control group, the differences were not statistically significant.

Key words: Infectious Bursal Disease virus, IBDV, immune complex, vaccination, protection, broiler

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) o Enfermedad de Gumboro es una infección viral aguda, altamente contagiosa de pollos jóvenes, cuyo agente etiológico es un Birnavirus que es considerado como el principal agente inmunosupresor de las aves (Banda y Villegas, 2004); además, es resistente a agentes físicos y químicos, persistiendo en el medio ambiente y en instalaciones avícolas por largo tiempo. La enfermedad es muy contagiosa y se presenta en dos formas: la clínica, que afecta a aves entre las 3 a 6 semanas de edad; y la subclínica, en aves menores de tres semanas (Lukert y Saif, 2003). La enfermedad se caracteriza por la destrucción de los linfocitos B inmaduros causando lesiones severas en la Bursa de Fabricio, mortalidad variable y diversos grados de inmunosupresión que incrementan la susceptibilidad a otras infecciones (Dolz *et al.*, 2005) y favorecen una pobre respuesta de anticuerpos a las vacunaciones (Zavala, 1999; Genova, 2000; Villegas y Banda, 2002).

El control de la enfermedad se realiza mediante medidas de bioseguridad y vacunación de las reproductoras y su progenie. Se dispone de vacunas comerciales con di-

versos grados de atenuación. Se conoce que las vacunas a virus vivo aplicadas al primer día de edad a pollos con bajos niveles de anticuerpos maternos pueden causar lesiones en la Bursa de Fabricio e inmunosupresión, mientras que en pollos con altos niveles de inmunidad materna se produce una inhibición de la inmunidad activa por neutralización viral (Haddad *et al.*, 1997; Villegas y Banda, 2002). Durante los últimos años se han desarrollado vacunas conteniendo complejos de antígeno-anticuerpo que son aplicadas *in ovo* o al primer día de edad. Este tipo de vacuna es capaz de proteger al virus vacunal de su neutralización por los anticuerpos maternos pero no impiden su progresiva replicación, de tal forma que pollos con bajos niveles de anticuerpos serán protegidos primero. Así mismo, por ser administradas a dosis única en la planta de incubación tienen la ventaja de evitar potenciales fallas en la administración de la vacuna a nivel de campo.

La vacuna complejo antígeno anticuerpo (Ag/Ac) se presenta como una alternativa de protección contra la EIB, cuya eficacia y seguridad requieren ser comprobadas. Por ello, en el presente estudio se evaluó la protección de dos vacunas comerciales que contienen un complejo Ag/Ac contra el virus

de la EIB versus un programa de vacunación con una vacuna convencional a virus vivo frente a un desafío experimental con la cepa estándar F52/70 de la EIB en pollos de carne.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó en los ambientes del Laboratorio de Patología Aviar y del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima.

Aves

Se emplearon 282 pollos de carne, de sexo macho, de la línea Ross 308, procedentes del mismo lote de reproductoras (57 semanas de edad). Las aves fueron distribuidas en cuatro grupos de 66 pollos cada uno (A, B, C y D), y las 18 aves restantes se destinaron para evaluación del nivel de inmunidad pasiva al primer día de edad.

Vacunas y Desafío

Se utilizaron vacunas comerciales a virus vivo: Cevac Transmune IBD® (Ceva) conteniendo el Complejo Ag/Ac con la cepa 2512 (Intermedia plus); Bursaplex® (Embrex) conteniendo el Complejo Ag/Ac con la cepa 2512 (Intermedia plus); Bursine® 2 (Fort Dodge, Animal Health) con la cepa Lukert (Intermedia suave); y ViBursa-CE (Vineland) con la cepa CE (Intermedia intermedia). Adicionalmente, todas las aves fueron vacunadas contra la Enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa en la planta de incubación y a los 16 días de edad con las vacunas Nobilis® Mas + Clone 30 y Cevac® VitaBron L.

La cepa F52/70 de la EIB (Laboratorios Intervet, Holanda) fue usada para el desafío. Los pollos recibieron el reto a los 35 días de

edad con un título de ELD_{50} de 10^3 por ml, a una dosis, vía ocular, de 50 μ L/ave.

Diseño Experimental

Se evaluaron los siguientes tratamientos:

- Grupo A: Vacunado con el Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD® al 1^{er} día de edad, vía subcutánea.
- Grupo B: Vacunado con el Complejo Ag/Ac Bursaplex® al 1^{er} día de edad, vía subcutánea.
- Grupo C: Vacunado con un programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine®2 y Vi-Bursa® CE, respectivamente).
- Grupo D: No vacunado contra la EIB.

Los cuatro grupos experimentales fueron criados en ambientes separados hasta los 35 días de edad. Luego, 45 aves de cada grupo fueron trasladadas al galpón de experimentación para ser desafiadas, vía ocular, con la cepa F52/70 de la EIB a una dosis de 50 μ L/ave. Las aves restantes se mantuvieron en sus ambientes iniciales como control no desafiado. A los 4, 7 y 10 días post desafío se realizó la necropsia a 15 aves desafiadas de cada grupo para la evaluación de lesiones bursales. Al 10^o día post desafío, 15 aves de cada grupo no desafiado fueron igualmente necropsiadas para la comparación de las bursas en estudio. De las 15 aves necropsiadas de cada grupo, se colectaron 5 bursas al azar, y se fijaron en formol al 10% para la evaluación histopatológica.

Parámetros de Evaluación

a) Signos clínicos y mortalidad

Se realizó la observación clínica diaria, post desafío, de todas las aves, registrando los casos de depresión, diarrea y mortalidad. La severidad de la diarrea se determinó por la presencia de heces acuosas en la zona alrededor de la cloaca, dándose valores de 0

(sin diarrea), 1 (diarrea leve), 2 (diarrea moderada) y 3 (diarrea severa).

b) Evaluación de lesiones macroscópicas

En las bursas se determinó la ocurrencia de edema y hemorragias. La atrofia bursal se determinó por el Índice Bursal (IB) [(Peso de la bursa / Peso corporal) x 1000], usando el criterio de interpretación descrito por Giambrone (1987), donde: 1.5-3.5 = Bursa normal; 0.5-1.5 = Atrofia bursal; y <0.5 = Severa atrofia bursal.

c) Evaluación de las lesiones microscópicas

Las cinco bursas de cada grupo y fijadas en formol al 10%, fueron procesadas bajo el método convencional. Las secciones de tejido fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina y examinadas al microscopio de luz para evaluar el efecto patógeno de las vacunas aplicadas y el grado de protección conferido por la vacunación. Las lesiones de las bursas se calificaron con una escala del 0 al 6 (Bolis *et al.*, 2003), en base a los cambios histopatológicos observados en los folículos linfoides de la bursa de Fabricio y en el tejido conjuntivo intersticial; de acuerdo a la escala siguiente:

- 0 y 1 = Normal
- 2 = Leve depleción linfoide
- 3 = Depleción linfoide, edema discreto, discreta invaginación epitelial
- 4 = Depleción linfoide, edema discreto, invaginación epitelial y fibroplasia intersticial
- 5 = Necrosis medular con formaciones quísticas, zonas de hemorragia en el intersticio o folículo linfoide y una severa fibroplasia intersticial
- 6 = Ausencia de folículos linfoides debido a necrosis hemorrágica, atrofia o fibrosis.

d) Evaluación serológica

Se colectaron muestras de sangre de 18 pollos de un día de edad (sin vacunación) para determinar el nivel de anticuerpos maternos contra la EIB. Además, se tomaron muestras de sangre de 10 aves por grupo los días 7, 14, 21, 28, 35 (antes del desafío), 42 (post desafío) y en el día 45, último día del estudio, para la evaluación de la respuesta serológica contra la EIB. Para la titulación de anticuerpos se utilizó la prueba de ELISA a través de un kit comercial (Laboratorios IDEXX Inc., Westbrook, ME). Los resultados se expresaron en promedios geométricos (PGT) y coeficiente de variación (CV).

e) Medición de los parámetros productivos

El peso corporal semanal de cada ave, así como el consumo de alimento semanal y acumulado se registró para determinar el Índice de Conversión Alimenticia (ICA) y el Índice de Eficiencia Productiva Europeo (IEPE).

Análisis Estadístico

Se utilizó el programa SPSS for Windows, versión 11.0. Los títulos de anticuerpos y parámetros productivos se evaluaron mediante el Análisis de Varianza de una sola vía, las diferencias estadísticas entre grupos se determinaron con la prueba de Duncan. Los índices bursales y la calificación de lesiones microscópicas se analizaron con la prueba de Kruskal Wallis.

RESULTADOS

Todos los grupos presentaron signos clínicos de depresión desde el 2º día y diarrea a partir del 3º día post desafío (PD), siendo más evidente en el grupo control (Figs. 1 y 2). La ocurrencia de diarreas se incrementó hasta el 5º y 7º día PD, y de allí disminuyó,

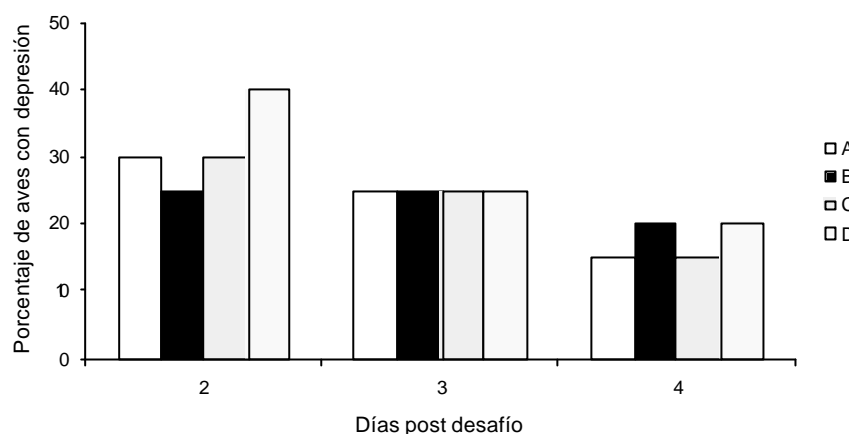


Figura 1. Frecuencia diaria (%) de depresión en pollos de carne de la línea Ross 308 (n = 180) vacunados contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB), luego del desafío con la cepa F52/70 de la EIB. A: *Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD® al 1^{er} día de edad*; B: *Complejo Ag/Ac Bursaplex® al 1^{er} día de edad*; C: *Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine®2 y Vi-Bursa® CE, respectivamente)*; D: *No vacunado contra la EIB*.

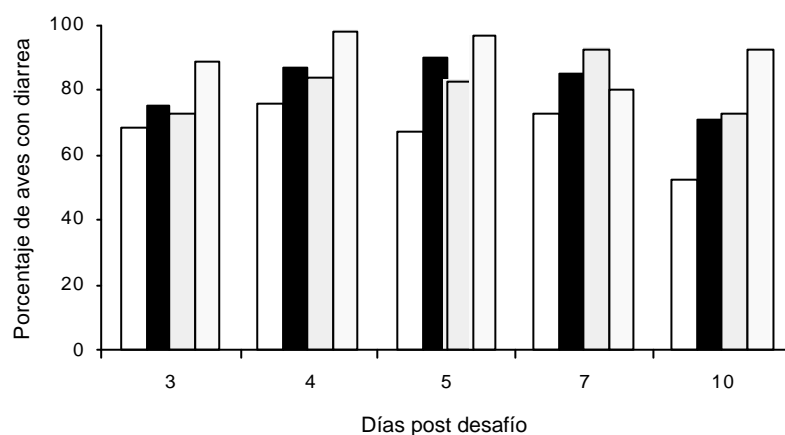


Figura 2. Frecuencia diaria (%) de diarrea en pollos de carne de la línea Ross 308 (n = 180) vacunados contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB), luego del desafío con la cepa F52/70 de la EIB. A: *Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD® al 1^{er} día de edad*; B: *Complejo Ag/Ac Bursaplex® al 1^{er} día de edad*; C: *Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine®2 y Vi-Bursa® CE, respectivamente)*; D: *No vacunado contra la EIB*.

especialmente en las aves vacunadas con el complejo Ag/Ac (grupos A y B, Fig. 1), siendo la severidad menor en aves del grupo A y ma-

yor en el grupo D. No se presentó mortalidad por la EIB post desafío en ninguno de los grupos evaluados.

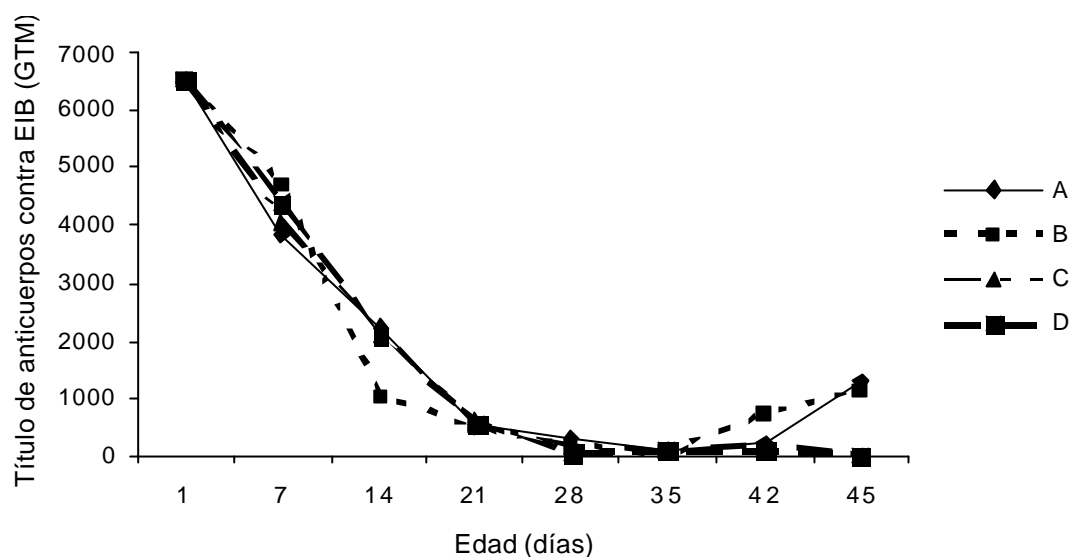


Figura 3. Título de anticuerpos contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) en pollos de carne de la línea Ross 308 ($n = 180$) que han sido vacunados y desafiados a los 35 días de edad con la cepa F52/70 de la EIB. A: *Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD² al 1^{er} día de edad*; B: *Complejo Ag/Ac Bursaplex² al 1^{er} día de edad*; C: *Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine² 2 y Vi-Bursa² CE, respectivamente)*; D: *No vacunado contra la EIB*.

Todos los grupos presentaron edema de la BF hasta el 10^o día PD. El edema se observó al 4^o día en los grupos A y B, aumentando hasta el 7^o día y disminuyendo al 10^o día; en cambio, en el grupo C el edema se presentó a partir del 7^o día, aumentando hasta el final del experimento. Las aves del grupo D presentaron edema severo, afectando al 87% de las aves al 10^o día PD (Cuadro 1).

El IB promedio de cada grupo indicó ausencia de atrofia en todos los grupos en el día del desafío. Al 4^o día PD, el grupo B fue el único grupo con un IB menor de 1.5 lo que indicó atrofia bursal. Al 10^{mo} día PD, el IB en todos los grupos desafiados indicó atrofia bursal (Cuadro 2). No hubo diferencias significativas entre ninguno de los grupos experimentales desafiados en sus respectivas edades, pero sí se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en las aves sin desafiar de 45

días de edad entre los grupos A y B frente a los grupos C y D.

La evaluación histopatológica de las BF indicó lesiones leves y uniformes en todos los grupos el día del desafío (Cuadro 3). En el 4^o día PD se apreció depleción linfóide de moderada a severa, zonas de necrosis e infiltración de heterófilos y macrófagos, y edema en la mayoría de las bursas de los cuatro grupos, donde los grupos B y C fueron los más afectados; y a partir del 7^o día, las lesiones fueron más severas en los grupos B y D, aunque sin diferencias estadísticas entre grupos. En el caso de las aves no desafiadas, los grupos A y B mostraron severa depleción linfóide, formaciones quísticas en diversos folículos y fibroplasia marcada, con calificaciones de 4.2, siendo estadísticamente superiores a las calificaciones de los grupos C y D ($p < 0.05$).

Cuadro 1. Lesiones macroscópicas externas en la Bursa de Fabricio luego del desafío con la cepa F52/70 de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) en pollos de carne (n = 264)

	Días post desafío	Lesiones bursales	Grupo ¹			
			A	B	C	D
Desafiados	4	Normal	80	33	87	40
		Edema	13	40	0	20
		Tamaño reducido	7	13	0	27
	7	Normal	40	13	40	27
		Edema	33	27	60	53
		Tamaño reducido	27	60	0	20
	10	Normal	7	7	7	0
		Edema	13	7	67	87
		Tamaño reducido	80	86	27	13
No desafiados	45 días de edad	Normal	0	0	75	100
		Edema	18	0	0	0
		Tamaño reducido	82	100	25	0

¹ A: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD² al 1^{er} día de edad; B: Complejo Ag/Ac Bursaplex² al 1^{er} día de edad; C: Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine² y Vi-Bursa² CE, respectivamente); D: No vacunado contra la EIB.

Cuadro 2. Índice Bursal promedio de aves desafiadas y sin desafiar con el virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) en pollos de carne

Grupo ¹	Edad (días)				
	Desafiados con la cepa F52/70 de la EIB				No Desafiados
	35	39	42	45	45
A	2.21	2.28	1.45	0.98	0.87
B	1.79	1.49	1.02	0.75	0.69
C	2.64	1.80	1.76	1.23	1.63
D	2.01	1.89	1.57	1.35	1.45

¹ A: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD² al 1^{er} día de edad; B: Complejo Ag/Ac Bursaplex² al 1^{er} día de edad; C: Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine² y Vi-Bursa² CE, respectivamente); D: No vacunado contra la EIB.

El título de anticuerpos maternos contra la EIB, el PGT al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 6534 con un CD de 20.8, disminuyendo progresivamente en todos los grupos hasta el día del desafío. En el día 10 PD, el título de anticuerpos de los

grupos A y B fue ligeramente superior a los grupos C y D, aunque sin haber diferencia significativa entre estos grupos (Fig. 3).

Los pesos corporales y el ICA fueron similares en todos los grupos durante el pe-

Cuadro 3. Promedio de la calificación histopatológica en Bursa de Fabricio de aves desafiadas y sin desafiar con el virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) en pollos de carne

Grupos ¹	Días de edad				
	Pre desafío	Post desafío			Sin desafío
	35	39	42	45	45
A	2.6	3.6	3.8	4.0	4.2
B	2.8	4.2	4.0	4.2	4.2
C	2.8	4.2	4.0	4.0	2.4
D	2.8	3.4	4.4	4.8	2.0

¹ A: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD[?] al 1^{er} día de edad; B: Complejo Ag/Ac Bursaplex[?] al 1^{er} día de edad; C: Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine[?] 2 y Vi-Bursa[?] CE, respectivamente); D: No vacunado contra la EIB.

Cuadro 4. Ganancia de peso, Índice de Conversión Alimenticia (ICA) e Índice de Eficiencia Productiva Europeo (IEPE) a los 45 días de edad de aves en pollos de carne que han sido vacunados contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) y desafiados a los 35 días de edad con la cepa F52/70 de la EIB

Grupo ¹	Ganancia de peso (g)	ICA	IEPE
A	1100.44	1.59	444.2
B	926.18	1.69	392.1
C	981.83	1.65	434.2
D	791.82	1.79	360.4

¹ A: Complejo Ag/Ac Cevac Transmune IBD[?] al 1^{er} día de edad; B: Complejo Ag/Ac Bursaplex[?] al 1^{er} día de edad; C: Programa tradicional a los 10 y 18 días de edad (Bursine[?] 2 y Vi-Bursa[?] CE, respectivamente); D: No vacunado contra la EIB.

riodo de crianza previo al desafío. El desempeño productivo de los cuatro grupos se presenta en el Cuadro 4. En la ganancia de peso vivo de las aves vacunadas de los grupos A, B y C mostraron diferencias de 308, 134 y 190 g a favor, respectivamente, en comparación con el control D. Estas ventajas de peso vivo están asociadas con la conversión alimenticia de estos grupos, donde los grupos A, B y C obtuvieron 10, 10 y 14 puntos me-

nos de alimento, respectivamente, que las aves del grupo D. La combinación de estos datos productivos en un solo índice productivo, determinó una ventaja para 83.8, 17.0 y 73.8 para los grupos A, B y C, respectivamente, con relación a las aves del grupo control D ($p < 0.05$). Asimismo, el grupo C presentó mejor índice de eficiencia productivo que el grupo B y el control.

DISCUSIÓN

Contrariamente a lo que suele ocurrir en campo con los brotes de enfermedad clínica, en el presente estudio realizado bajo condiciones experimentales, no se registró mortalidad atribuible a la EIB luego del desafío con la cepa F 52/70 de la EIB. Estas diferencias en el comportamiento clínico de las aves en condiciones experimentales quizás obedecieron a las diferentes condiciones ambientales de crianza y manejo, concordando con trabajos experimentales que utilizaron cepas clásicas y de alta virulencia sin causar mortalidad en las aves vacunadas (Haddad *et al.*, 1997; Bolis *et al.*, 2003; Rautenschlein *et al.*, 2003; Pérez, 2005).

La presencia de signos clínicos observados a partir del 2° día PD, especialmente los casos de diarrea, fue similar a lo observado en otros estudios (Pérez, 2005), donde luego de un breve periodo de manifestaciones clínicas, la incidencia de diarreas decae rápidamente, indicando una recuperación natural del ave frente al daño causado por el virus a las células de las vellosidades del intestino donde tiene una replicación primaria. En el presente estudio, los casos de diarrea fueron más severos en las aves del grupo no vacunado, y fue posiblemente uno de los principales factores que afectaron negativamente en su comportamiento productivo.

El IB es usado para determinar la atrofia de la bursa, que puede ser causada por el virus de campo de Gumboro, virus vacunales, e inclusive otros entes inmunosupresivos como agentes tóxicos alimenticios, principalmente micotoxinas, y otros factores de estrés (Fernández, 2001; Revidatti *et al.*, 2001; Cardoso, 2002; Guimarães *et al.*, 2003; Perozo-Marín *et al.*, 2003). El IB de cada grupo a los 35 días de edad indicó que las bursas estaban normales, aunque el grupo B mostró una tendencia a la atrofia bursal, posiblemente como consecuencia de la replicación en la BF de la cepa vacunal, considerada como intermedia plus, la cual posee

mayor grado de patogenicidad que otras; sin embargo, cabe destacar que el grupo A vacunado con el complejo vacunal Ag/Ac contiene la misma cepa, mostró mejor IB, lo cual indicaría que las vacunas tienen diferencias en la concentración de anticuerpos, y por lo tanto diferencias en la protección al daño celular y consecuente atrofia de la BF. Estudios previos reportaron que en aves vacunadas con cepas intermedias plus encontraron BF con tendencia a la atrofia (Haddad *et al.*, 1997; Reyes, 2000; Guerrero, 2001).

La evaluación histopatológica de las BF antes del desafío mostró moderada depleción linfóide en todos los grupos, lo que se podría deber a una replicación del virus vacunal contra la EIB y daño de la BF por esta causa (Mohamed *et al.*, 1996; Haddad *et al.*, 1997; Reyes, 2000; Guerrero, 2001; Sellers *et al.*, 2001; Rautenschlein *et al.*, 2003). De otro lado, las BF del grupo control no vacunado mostraron igualmente depleción linfóide moderada con calificaciones similares a los grupos vacunados, lo que podría deberse a una transmisión horizontal de una cepa de virus, por ser ubicuo y porque las condiciones de crianza no fueron de estricto aislamiento. También es importante indicar que esta prueba determina daño bursal que no es exclusivo del virus de Gumboro, pues factores de estrés y de agentes tóxicos de los alimentos pueden también causar un daño similar (Revidatti *et al.*, 2001; Guimarães *et al.*, 2003; Perozo-Marín *et al.*, 2003). Posterior al desafío, el IB de los grupos A y B fue menor que de los otros dos grupos, evidenciando atrofia a los 39 y 42 días de edad, lo cual coincide con los hallazgos de Haddad *et al.* (1997).

El grupo no vacunado (grupo D) registró el menor daño bursal el 3^{er} día post desafío, pero a la vez, tuvo el mayor daño al 7° y 10° día PD, indicando que probablemente aves no expuestas y desafiadas con virus patogénicos tienen una más lenta replicación viral primaria a nivel intestinal tardando más en llegar al órgano blanco, la Bursa. Esto se corrobora con la mayor intensidad y porcentaje de aves afectadas con diarrea en las aves

de este grupo. Las aves no desafiadas de los grupos A y B de 45 días de edad presentaron una severa depleción linfóide, fibroplasia y folículos linfoides con formaciones quísticas en su interior, que podrían estar asociadas a las cepas vacunales de EIB usadas en el estudio.

Los niveles de anticuerpos mostraron el nivel más bajo a los 35 días de edad, debido probablemente al catabolismo de los anticuerpos maternos y a la ausencia de una seroconversión detectable de los grupos vacunados (Haddad *et al.*, 1997; Corley *et al.*, 2001; Corley y Giambrone, 2002). Sin embargo, pese al bajo nivel de anticuerpos, se observó una protección contra el virus de desafío, ya que los grupos vacunados tuvieron menos lesiones que el grupo sin vacunar, lo que evidenciaría que los mecanismos de inmunidad celular tienen una función importante en la protección contra el desafío de la EIB (Haddad *et al.*, 1997; Corley y Giambrone, 2002; Rautenschlein *et al.*, 2003).

Los niveles de anticuerpos fueron más elevados en los grupos A y B a los 45 días. Estos resultados coinciden con otros estudios (Haddad *et al.*, 1997), donde se observó mayor título de anticuerpos en aves vacunadas con el complejo vacunal Ag/Ac que en aves vacunadas con una vacuna intermedia sin anticuerpos. Además, ha sido señalado que las cepas más fuertes son más antigénicas y dan más títulos de anticuerpos (Castro-Pozo, 1994; Rautenschlein *et al.*, 2003; Pérez, 2005). De otro lado, los bajos niveles de anticuerpos de los grupos C y D podrían deberse a una replicación tardía del virus o a una menor estimulación de las células B de memoria por parte del virus vacunal. Las vacunas complejo Ag/Ac permanecen por largos periodos de tiempo adosadas a las células dendríticas foliculares de la BF y bazo y en los centros germinales, y probablemente esta forma de preservación de antígeno juega un rol importante en la generación de células B de memoria y en el mantenimiento por largo tiempo de la respuesta humoral (Jeurissen *et al.*, 1998; Corley *et al.*, 2001), aunque el mecanismo de acción de este complejo vacunal no está claro.

El comportamiento productivo del grupo A fue ligeramente superior, aunque no significativo a los grupos C y D. Resultados similares han sido reportados por Kelemen *et al.* (2000) donde durante el periodo de desafío, los pollos vacunados con el complejo Ag/Ac tuvieron mayor peso corporal que las aves vacunadas con una vacuna convencional no ligada a anticuerpos. Las diferencias en la ganancia de peso entre los grupos A y B que recibieron el complejo Ag/Ac, ambas con el virus vacunal 2512, se puede deber a que las vacunas no son producidas por la misma compañía, y las vacunas pueden contener diferentes cantidades de anticuerpos específicos, composición que es confidencial de las empresas. Se ha demostrado que la cantidad de anticuerpos en el complejo vacunal Ag/Ac podría ejercer una influencia en el inicio y el grado de replicación del virus (Iván *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

- ? Los grupos de aves vacunados contra la EIB fueron protegidos del desafío con la cepa F52/70.
- ? El grupo A vacunado con el complejo Ag/Ac al 1^{er} día de edad mostró mejor protección que los otros grupos de vacunación.

LITERATURA CITADA

1. **Banda A, Villegas P. 2004.** Genetic characterization of very virulent Infectious Bursal Disease viruses from Latin America. *Avian Dis* 48: 540-549.
2. **Bolis D, Paganini F, Simon V, Zuanaze M, Scanavini N, Correa A, Ito N. 2003.** Gumboro disease: evaluation of serological and anatomopathological responses in vaccinated broiler chickens challenged with very virulent virus strain. *Rev Brasileira Ciencia Avícola* 5(2): 137-146.

3. **Cardoso B. 2002.** Micotoxinas como factor inmunosupresor. En: V Seminario Internacional en Ciencias Avícolas. AMEVEA. Bolivia.
4. **Castro-Pozo C. 1994.** Evaluación de parámetros productivos y respuesta inmune en pollos de engorde vacunados contra dos programas de vacunación contra la Enfermedad de Gumboro. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 25 p.
5. **Corley M, Giambrone J, Dormitorio T. 2001.** Detection of Infectious Bursal Disease vaccine viruses in lymphoid tissues after in ovo vaccination of specific-pathogen-free embryos. *Avian Dis* 45: 897-905.
6. **Corley M, Giambrone J. 2002.** Immunosuppression in specific-pathogen-free broilers administered Infectious Bursal Disease virus vaccines by in ovo route. *Avian Dis* 46: 810-815.
7. **Dolz R, Majo N, Ordóñez G, Porta C. 2005.** Viral genotyping of Infectious Bursal Disease viruses isolated from the 2002 acute outbreak in Spain and comparison with previous isolates. *Avian Dis* 49: 332-339.
8. **Fernandez R. 2001.** Efecto de las micotoxinas como agente inmunosupresor en los programas de vacunación de las aves. En: XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura. Guatemala.
9. **Genova K. 2000.** Influence of the Infectious Bursal Disease virus strains on the avian immune system. *Rev. Exp Pathol Parasitol* 4: 27-30.
10. **Giambrone J. 1987.** Evaluación y relaciones morfológicas en la enfermedad infecciosa de la bursa como método de diagnóstico. Georgia, USA: The American of Avian Pathology. p 24-38.
11. **Guerrero D. 2001.** Evaluación de la patogenicidad de las cepas vacunales intermedias S-706 y 2512 del virus de Gumboro en la Bursa de Fabricio en pollos de carne. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 27 p.
12. **Guimarães E, Vasconcelos A, Martins N, Oliveira R, Moro L, Nunes J, Santos F. 2003.** Porcentagem de parênquima e índice apoptótico da bolsa cloacal em frangos de corte em ambiente de conforto e estresse térmico. *Arq Bras Med Vet Zoo* 55(2): 178-186.
13. **Haddad E, Whitfill C, Avakian A, Ricks C, Andrews P, Thoma J, Wakenell P. 1997.** Efficacy of a novel Infectious Bursal Disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Dis* 41: 882-889.
14. **Ivan J, Velhner M, Ursu K, Germán P, Mató T, Drén D, Mészáros J. 2005.** Delayed vaccine virus replication in chicken vaccinated subcutaneously with an immune complex Infectious Bursal vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Can J Vet Res* 69: 135-142.
15. **Jeurissen S, Janse E, Lehrbach P, Haddad E, Avakian A, Whitfill C. 1998.** The work mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology* 95: 494-500.
16. **Kelemen M, Forgách K, Iván J, Palya V, Suveges T, Toth B, Meszaros J. 2000.** Pathological and immunological study of an in ovo complex vaccine against infectious bursal disease. *Acta Vet Hung* 48: 443-454.
17. **Lukert P, Saif V. 2003.** Infectious bursal disease. In: Saif VM (ed). *Diseases of poultry*. 11th ed. USA: Iowa State Press. p 161-179.
18. **Mohamed K, Al-Natour M, Ward L, Saif Y. 1996.** Pathogenicity, attenuation, and immunogenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 40: 567-571.
19. **Pérez C. 2005.** Evaluación de dos programas de vacunación que contienen la cepa 2512 de la enfermedad de Gumboro frente a la infección experimental con la

- cepa F 52/70. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos.
20. **Perozo-Marín F, Rivera S, Finol G, Mavárez Y. 2003.** Aflatoxina B1, selenio y *Saccharomyces cerevisiae* en la respuesta inmune de pollos de engorde en el estado Zulia, Venezuela. Rev Cient FCV-LUZ 23: 360-370.
21. **Rautenschlein S, Yeh H, Sharma J 2003.** Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate, and virulent strains of classic Infectious Bursal Disease virus. Avian Dis 47: 66-78.
22. **Revidatti F, Fernandez R, TerraesJ, Sandoval G, Esquivel de Luchi P. 2001.** Modificaciones del peso corporal e indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo. Rev Vet 12/13: 11-14.
23. **Reyes O. 2000.** Efecto patógeno de las cepas vacunales 2512 y ST-12 del virus de la enfermedad de Gumboro sobre la Bursa de Fabricio en pollos de carne. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 25 p.
24. **Sellers H, Villegas P, El-Attrache J, Kapczynski D, Brown C. 2001.** Detection of infectious bursal disease virus in experimentally infected chickens by in situ hybridization. Avian Dis 45: 26-33.
25. **Villegas P, Banda A. 2002.** Enfermedad infecciosa de la bolsa. Industria Avícola 49(7): 22-25.
26. **Zavala G. 1999.** Un sistema inmune sólido es esencial para la integridad del sistema respiratorio. Avicultura Profesional 17(8): 15-16.